



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Multilayer porous scaffolds for cartilage tissue engineering

Campos Mora, Y.

### Citation

Campos Mora, Y. (2022, September 7). *Multilayer porous scaffolds for cartilage tissue engineering*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3455223>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3455223>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

## SPANISH SUMMARY

En el **Capítulo 1**, se introduce el concepto de osteoartritis (OA) en relación con el daño y la reparación del cartílago. El cartílago articular es un tejido blando muy importante en nuestro cuerpo que mantiene las articulaciones lubricadas para asegurar una superficie lisa, lo cual facilita la transmisión de cargas mecánicas proporcionando el menor coeficiente de fricción posible. A diferencia de la mayoría de los tipos de tejidos, este carece de vasos sanguíneos y linfáticos y tiene una población celular baja, que comprende principalmente condrocitos. En consecuencia, la recuperación del cartílago endógeno es lenta y está limitada por un transporte local débil de nutrientes. Debido al rápido aumento de la osteoartritis en la población mundial en los últimos años, ha sido de gran interés para los científicos, la búsqueda de la mejor manera de aliviar síntomas como el dolor y la inflamación mediante tratamientos paliativos como anestésicos específicos y antiinflamatorios. Se han diseñado y probado varios sistemas de ingeniería de tejidos para la reparación del cartílago durante las últimas dos décadas, lo que ha llevado al desarrollo de muchos injertos prometedores. Sin embargo, nadie ha logrado idear un sistema óptimo para restaurar el cartílago articular dañado.

En el **Capítulo 2** de este documento, revisamos el estado del arte de la técnica de ingeniería de tejidos para la reparación del cartílago articular. Primero, describimos la estructura y función molecular, celular e histológica del cartílago endógeno, enfocándonos en condrocitos, colágenos, matriz extracelular y proteoglicanos. Luego exploramos el cultivo celular *in vitro* en andamios, discutiendo las dificultades involucradas en mantener u obtener un fenotipo condrocítico. A continuación, discutimos los diversos compuestos y diseños utilizados para estos andamios, incluidos biomateriales naturales y sintéticos y arquitecturas porosas, fibrosas y multicapa. Luego informamos sobre las propiedades mecánicas de diferentes andamios cargados de células y el éxito de los mismos después de la implantación *in vivo* en animales pequeños, en términos de generar tejido que estructural y funcionalmente se asemeja al nativo. Por último, destacamos las tendencias futuras en este campo. Concluimos que a pesar de los importantes avances técnicos realizados en los últimos 15 años y de la mejora continua de los resultados en los experimentos de reparación del cartílago en animales, el desarrollo de implantes clínicamente útiles para la regeneración del cartílago articular sigue siendo un desafío.

Por esa razón, el objetivo general de esta tesis doctoral es diseñar y desarrollar un novedoso andamio poroso de tres capas, similar en composición química y estructura al cartílago articular, para ser injertado en la rodilla, y de esta forma reemplazar y restaurar el tejido dañado por osteoartritis que se encuentra próximo al hueso subcondral.

Dicho biomaterial tricapas está compuesto por los polímeros naturales quitosana y colágeno, y una de sus capas incluye hidroxiapatita, un componente bioactivo que facilita la integración del tejido en crecimiento en el hueso local en la zona de implante. Su composición en gradiente y estructura imitan las variaciones del cartílago articular

natural. Se evaluó la morfología de la superficie del andamio; rendimiento reológico (módulos de almacenamiento, pérdida, complejo y de relajación de tiempo a 1 kHz); estabilidad fisiológica; actividad *in vitro* y citotoxicidad con la línea celular C28 de condrocitos; y rendimiento *in vivo* (crecimiento tisular y biodegradabilidad), en un modelo murino de osteoartritis. Se demostró que la estructura tridimensional era mecánicamente resistente y no citotóxica, favoreció el crecimiento de tejido *in vivo* y permaneció estable durante 35 días después del implante en ratones (**Capítulo 3**).

Debido a la gran importancia en las propiedades mecánicas de este tipo de materiales por su utilidad en una zona del organismo de altas cargas cíclicas (la rodilla), se prepararon y caracterizaron andamios poliméricos de tres capas (ósea, capa intermedia y superior) y se evaluaron y compararon sus propiedades reológicas. Los materiales se reticularon física o químicamente con el fin de obtener andamios adecuados para dicha aplicación, se analizó el impacto del tipo de fosfato cálcico utilizado en la capa ósea, el polímero utilizado en la capa intermedia y el proceso de reticulación entre capas. Se examinó la correlación entre micrografías SEM, caracterización físico-química, comportamiento de hinchamiento, medidas reológicas y estudios celulares. Los módulos de almacenamiento a 1 Hz fueron de 0,3 a 1,7 kPa para los andamios físicamente reticulados y de 4 a 5 kPa (sistema EDC / NHS) y 15 a 20 kPa (glutaraldehído) para los andamios químicamente reticulados. La viscoelasticidad intrínseca y la poroelasticidad se consideraron al discutir el mecanismo físico que domina en diferentes escalas de tiempo / frecuencia. La evaluación celular mostró que todas las muestras están disponibles como alternativas para reparar y / o sustituir el cartílago en la osteoartritis articular (**Capítulo 4**).

Se conoce que casi todas las enfermedades del cartílago, como la osteoartritis (OA), provocan la inflamación de los propios tejidos. Sin embargo, pueden controlarse con biomateriales que actúan como un sistema de administración de fármacos, capaz de dosificar la entrega del principio activo a lo largo del tiempo en un área específica. Por este motivo, se incorporó Etanercept (ETA) a los andamios basados en quitosana y colágeno previamente estudiados en el **Capítulo 2**, para disminuir el proceso inflamatorio en este tejido blando. ETA es un bloqueador de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la interleucina 6 (IL-6). También se reticuló uno de los biomateriales obtenidos para comparar sus propiedades mecánicas con el que no fue entrecruzado. Se estudiaron las propiedades fisicoquímicas del material mediante SEM, micro-CT y fotoacústicas y también se compararon sus propiedades reológicas. Se realizó el estudio *in vitro* de la viabilidad celular y la proliferación de la línea celular de condrocitos humanos C28. Se evaluó la liberación controlada *in vitro* e *in vivo* en ambas muestras. El efecto antiinflamatorio de ETA también se estudió mediante la producción *in vitro* de TNF- $\alpha$  e IL-6. Los biomateriales reticulados y no tratados mostraron propiedades reológicas adecuadas para esta aplicación. Son no citotóxicos y favorecieron el crecimiento *in vitro* de condrocitos. La liberación de ETA *in vitro* e *in vivo* mostró excelentes resultados como sistema de administración de fármacos. El ensayo de producción de TNF- $\alpha$  e IL-6 demostró que

este fármaco es eficaz como antiinflamatorio. Para los experimentos *ex vivo*, el tejido del cartílago OA mejoró cuando se injertó el armazón que contiene Etanercept en el área dañada. Estos alentadores resultados resaltan el potencial de este andamio poroso para aplicaciones clínicas en la ingeniería de tejidos de cartílago (**Capítulo 5**).